

ÜBER DEN EINFLUSS VON α -LIPONSÄURE, GLUKOSE-6-PHOSPHAT
UND FRUKTOSE-6-PHOSPHAT AUF DIE MITOTISCHE AKTIVITÄT
ANAGENER HAARFOLLIKEL DER ALBINOMAU S IN VIVO

von

MEHDI TEHRANIAN

=

1965

ÜBER DEN EINFLUSS VON α -LIPONSÄURE, GLUKOSE-6-PHOSPHAT
UND FRUKTOSE-6-PHOSPHAT AUF DIE MITOTISCHE AKTIVITÄT
ANAGENER HAARFOLLIKEL DER ALBINOMAUS IN VIVO

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

MEHDI TEHRANIAN

aus Meschhed/Iran

MAINZ 1965

Dekan: Prof.Dr. G. W. Korting
Referent: Prof.Dr.med. O. Braun-Falco
Korreferent: Prof.Dr.med. G. W. Korting
Tag der mündl.Prüfung: 26. November 1965



Gesamtherstellung: Ditters Bürodienst Mainz

INHALTSVERZEICHNIS

I. Einleitung und Literaturüberblick

1. Die Bedeutung der Haarmatrixzellen für das Haarwachstum der Albinomaus
2. Die mitotische Aktivität der Haarmatrixzellen während des Haarzyklus
3. Grundlagen der Versuchsanordnung und ihre Beeinflussung bei Untersuchungen über das Haarwachstum
4. Problemstellung der vorliegenden Untersuchungsreihen

II. Eigene Versuche - Anordnung und Ergebnisse

1. Über die Wirkung der α -Liponsäure
Glukose-6-Phosphat
Fruktose-6-Phosphat
auf die mitotische Aktivität im Haarbulbus der Albinomaus
und deren Bedeutung im Kohlenhydratstoffwechsel
2. Versuchsanordnung
3. Ergebnisse

III. Besprechung der Ergebnisse

IV. Zusammenfassung

V. Graphische Darstellung

VI. Literaturverzeichnis

I. EINLEITUNG UND LITERATURÜBERBLICK

In unserer Arbeit war uns die Aufgabe gestellt, über die mitotischen Veränderungen an der Haarmatrix der Albinomaus in vivo zu berichten unter dem Einfluß von Substanzen aus dem energieliefernden Stoffwechsel.

Dabei handelte es sich um die folgenden Stoffe:

1. α -Liponsäure
2. Glukose-6-Phosphat
3. Fruktose-6-Phosphat

Als Grundlage zu diesen Untersuchungen dienten uns die bisherigen Ergebnisse, die über das Haarwachstum und seine Abhängigkeit von der mitotischen Aktivität der Haarmatrixzellen vorliegen.

Wir möchten nachfolgend kurz darauf eingehen.

1. Die Bedeutung der Haarmatrixzelle für das Haarwachstum der Albinomaus

Beim Haar unterscheidet man:

- a) Den in der Haut verbliebenen Teil "die Wurzel",
- b) den frei aus ihr hervorgehenden "Schaft".

Die Wurzel hat am Ende eine kolbenförmige Verdickung "Haarzwiebel" (bulbus pili), in diese ragt von unten die bindegewebige Haarpapille ein.

Die Entwicklung der ersten Haarfollikel beginnt bei der Maus drei Tage vor der Geburt (Fraser 1928, Chase 1954, Montagna 1956). Andere Follikel werden bis zu vier Tagen nach der Geburt angelegt.

Zunächst zeigt sich eine Zellanhäufung im Bereiche der Malpighischen Schicht, die in ihrer Konvexität nach der Tiefe immer mehr zunimmt. Die prospektive Papille macht sich bald als leichte Zusammenballung von Bindegewebe unter dieser Epithelknospe bemerkbar.

Die Epithelknospe verlängert sich in die Tiefe. Nach einigen Tagen (während des ersten Lebensstages: Wolbach 1951) verbreitert sich die Basis des epithelialen Abschnittes und stülpt sich ein, um den Bulbus zu bilden. Die vergrößerte bindegewebige Papille dringt in den Haarbulbus ein. Mit der Ausbildung eines deutlichen Follikelbulbus und mit Erscheinen der inneren Wurzelscheide als dünne Keratinkuppel über der basalen Schicht der Epithelzellen, die die Papille einhüllen, trennen sich jetzt die peripheren Zellen des Epithelstranges von dem Kern des Follikels (Butcher 1951 u. Chase 1954). Der Kern bil-

det die innere Wurzelscheide und den Schaft des Haares. Die peripheren Zellen bleiben mit der Malpighischen Schicht der Epidermis in Verbindung und werden zur äußeren Wurzelscheide (Butcher 1951 u. Chase 1954). Nach Dry (1926) hat der Follikel etwa eine Woche nach Beginn der Entwicklung seine endgültige Länge erreicht, die bis zum Beginn der Catagenphase bestehen bleibt. Die innere Wurzelscheide ist jetzt durch ihr glasiges Aussehen gut von der äußeren zu unterscheiden.

Zwischen Talgdrüse und Epidermis wird das Haar nur von Zellen der äußeren Wurzelscheide umgeben, die hier verhornen und dem Haar lose anliegen. Die epithelialen Zellen des Bulbus, die die Oberfläche der Papille bedecken, stellen die zukünftige Matrix dar (Butcher 1951). Durch mitotische Aktivität der Matrixzellen um die Basis der Papille entstehen Zellen der Cuticula, Rinde und der inneren Wurzelscheide. Die Matrixzellen im Bereich der Spitze der Papille werden zum Mark des Haarschaftes (Butcher 1951). Die Matrixzellen bilden also das Material des wachsenden Haares, bis es (nach Butcher 1951) um den 17. Lebenstag der Maus seine endgültige Länge erreicht hat. Von Bullough u. Laurence (1958) wird die Haarmatrix innerhalb des Bulbus durch die Spitze der dermalen Papille nach oben zu begrenzt, während andere Autoren wie Auber (1952) und Montagna u. van Scott (1958) die Haarmatrix als den Teil des Haarbulbus bezeichnen, der unterhalb der Linie, die durch den breitesten Teil der Papille zieht, gelegen ist. Auch oberhalb dieser gedachten Linie sind immer noch einige mitotisch aktive Zellen vorhanden, sie spielen aber im allgemeinen für die Haarproduktion keine besondere Rolle (Montagna u. van Scott 1958).

Die Mitosen zeigen in ihrer Anordnung im Bulbus deutlich eine Begrenzung auf dessen basalen Bereich (Matrix). Im wesentlichen liegt diese Grenze im Bereich des größten Durchmessers der Papille, wenn auch einige diese Grenze überschreiten (H. Ohnacker 1960).

Das Haarwachstum wird durch die Proliferation der Matrixzellen und ihres Wachstums erreicht (Montagna u. van Scott 1958). Über den Ursprung der Papille der neuen Haargeneration herrschen verschiedene Auffassungen. Dry (1926) und Butcher (1951) nehmen an, daß unmittelbar vor dem Beginn des Wachstums des Keimes die alte Papille zugrunde geht und eine neue sich an der Basis des Follikels bildet. Wolbach (1951) und Segall (1918) sehen dagegen Überreste der alten Papille, die nur teilweise zugrunde gegangen ist, als Ursprung der neuen Papille an. Untersuchungen von Braun-Falco u. Theisen (1959) bestätigen diese Auffassung. Sie verfolgten das Wachstum einer neuen Haargeneration nach chemischer Zerstörung des Bulbus

und der Papille der alten Haare und konnten nur dort die Entwicklung neuer Haare beobachten, wo die Papille teilweise erhalten geblieben war.

Chase (1955) bemerkte, daß die Produktion der Haare eine Funktion der Haut darstellt, obgleich jene anatomisch als Anhangsgebilde der Haut betrachtet werden.

Während die Haaarentwicklung kontinuierlich vonstatten geht, so finden sich, wie Küntzel, Vago und Seitz (1937) darlegten, bei den Haaren ein deutlich zyklischer Ablauf im Hinblick auf ihre Bildung und Ausstoßung. Es handelt sich um einen eigenartigen Rhythmus, insofern als eine Wachstumsperiode in ständigem Wechsel mit der Ruheperiode steht. Erst beide Perioden zusammen bilden den Haarwachstumszyklus (H. Ohnacker (1960)).

Diese Abläufe (Ruheperiode und Wachstumsperiode) gelten generell für die Haarfollikel jeder Tierart, jedoch gibt es bedeutsame Unterschiede in der Synchronisation des Haarwachstums.

Bei Mensch und Meerschweinchen weist jeder Follikel unabhängig vom benachbarten Follikel einen eigenen Wachstumszyklus auf (Chase 1955), d.h. es besteht keine Synchronisation im Haarwachstum im Gegensatz zu Maus, Ratte, Hamster und Kaninchen. Chase begründet auf Grund seiner experimentellen Untersuchungen dieses eigenartige Verhalten damit, daß ein unterschiedlicher Abstand zwischen den einzelnen Haarfollikeln möglicherweise in Frage käme, insofern als bei einem Follikelabstand von $1/2 - 1/3$ mm oder noch geringerem Abstand eine gegenseitige "Induktion" resultiert und damit eine Haarwachstums-
welle entsteht.

Während bei den meisten Säugetieren eine jahreszeitliche Mauserung des Haarkleides festzustellen ist, so ist im Gegensatz dazu bei den vorstehend aufgeführten Tierarten (Maus, Ratte, Hamster und Kaninchen) der Wechsel weit-
aus häufiger und von der Jahreszeit unabhängig. Des weiteren ist hier, wie Collins (1919), Dry (1926), Haddow u. Mitarb. (1945), Haddow u. Rudall (1945), Gibbs (1941), Fraser (1951) und Butcher (1951) angeben, nicht das ganze Haarkleid in toto betroffen, sondern der Verlauf immer ein wellenförmiger, der entsprechend einem bestimmten Regulativ über den ganzen Körper abläuft.

Aus der Arbeit von Borum (1934) geht hervor, daß das erste Haarkleid der Maus im allgemeinen 2 - 3 Tage nach der Geburt am Rücken beginnt, sowie am Kopf und Hals. Über Kinn und Abdomen treten die ersten Haare am 4. und 5. Tage auf. Schließlich zeigt sich zwischen 8. und 10. Lebenstag der

jungen Maus eine deutliche Abgrenzung zwischen dem dichten Rückenfell und der zarten Behaarung des Abdomens.

Die vollständige Ausbildung des ersten Haarkleides und Beendigung des Wachstums der ersten Haargeneration erfolgt am 12. Tag.

Zwischen 29. - 32. Tag beginnt die zweite Haarwachstumswelle oder Haargeneration. Ausgangspunkt der Entwicklung ist hier im Gegensatz zur ersten Haarwachstumswelle die ventrale Seite der Maus. Sie beginnt im Bereiche des Kinns, breitet sich von hier über die Brust und den Bauch aus, um erst am Schluß den Rücken zu erreichen. Sämtliche jetzt nachfolgende Haarwachstumswellen weisen diesen Verlauf auf, d. h. von der ventralen Seite des Halses über das Abdomen zum Rücken. Erst im höheren Alter werden sie dann wieder unregelmäßig.

Es befinden sich daher die einzelnen Körperregionen zeitlich in verschiedenen Entwicklungsperioden des Haarfollikels, d. h. bei Haarfollikeln einer bestimmten Körperregion besteht Phasengleichheit, bei Haaren verschiedener Körperregionen Phasenverschiedenheit. Diese Beobachtungen sind insofern von besonderer Bedeutung für unsere experimentellen Untersuchungen, als nur Follikel einer bestimmten Körperregion miteinander verglichen werden können. Allerdings ist einschränkend zu bemerken, daß diese Phasenverschiedenheit nur in Zeiten aktiven Wachstums besteht, da im Verlaufe der Ruheperiode sich diese zeitlichen Differenzen weitgehend ausgleichen, im allgemeinen nach 2. - 3. Haargeneration. Chase (1954) konnte die interessante Beobachtung machen, daß "die Ränder einer fortgeschrittenen Wachstumswelle zerkerbt sind und Inseln neuen Haarwachstumsregellos über das alte Haarkleid zerstreut gefunden werden können". Generell als besonders brauchbar hinsichtlich der Einteilung des Haarwachstumszyklus der Maus (Wachstumsperiode und Ruheperiode) hat sich uns die Unterteilung von Dry (1926) erwiesen (zit. nach Braun-Falco 1962). Die grundlegenden Vorgänge der Haarentwicklung und des Haarwachstums sind im Prinzip bei allen Säugetieren die gleichen (Auber 1952, Danneel 1931 u. Pinkus 1958).

Es ist bekannt, daß die Haare nicht kontinuierlich wachsen, vielmehr ihr Wachstum einem rhythmischen Ablauf unterliegt, dessen einzelne Phasen den Haarzyklus bilden.

Dry (1926) unterschied bezüglich der Entwicklung des Mäusehaares drei Hauptphasen:

1. Das ANAGEN, die Wachstumsphase, gekennzeichnet durch Proliferation des Haarkeimes, Bildung des Haarbulbus und Haarwachstum.
2. Das CATAGEN, die kurze Phase, gekennzeichnet durch Sistieren des Haarwachstums und Bildung des Kolbenhaares.

3. Das TELOGEN, die Ruhephase, gekennzeichnet durch das ruhende Kolbenhaar. Es endet mit Einsetzen der mitotischen Aktivität im neuen Haarkeim.

Während des Anagen erfolgen die umfassendsten Veränderungen im Haarfollikel: Ausbildung des Haarbulbus, Aufbau und Bildung von innerer Wurzelscheide und Haarschaft, Längenwachstum des Haarfollikels, der schließlich mit seinem Bulbus tief in das subkutane Fettgewebe reicht. Chase, Rauch u. Smith (1951) haben auf der Basis ihrer Studien an Mäusen daher vorgeschlagen, daß Anagen in sechs weiteren Unterstadien (Anagen I - VI) einzuteilen, die morphologisch einwandfrei voneinander abzugrenzen sind:

ANAGEN I (1. - 2. Tag des Haarzyklus): Rege mitotische Aktivität in den undifferenzierten Zellen des Haarkeimes.

ANAGEN II (2. - 3. Tag des Haarzyklus): Herabwachsen der undifferenzierten Zellen des Haarkeimes um die hochstehende dermale Haarpapille und beginnen die Bildung eines Haarbulbus. Direkt über der basalen Schicht entsteht bereits eine dünne Keratinkuppel als Beginn der inneren Wurzelscheide.

ANAGEN III (3. - 5. Tag des Haarzyklus): Die Kuppel der inneren Wurzelscheide hat sich zugespitzt und wächst nach oben durch die Röhre der äußeren Wurzelscheide ("Haarkanal") vor. Die Matrixregion innerhalb des vollausgebildeten Haarbulbus ist deutlich hervorgetreten. Der untere Pol des Haarbulbus dringt infolge fortgesetzten Längenwachstums der äußeren Wurzelscheide weiter in die Tiefe der Cutis vor.

ANAGEN IV (6. Tag des Haarzyklus): Die Haarbildung hat eingesetzt. Die Spitze des in Rinde und Mark differenzierten Haarschaftes steht etwa in Höhe der Basis der Talgdrüse. Die dermale Haarpapille ist schmal und lang. Der untere Pol des Haarbulbus hat seinen tiefsten Stand erreicht und befindet sich etwa 500 μ unter der Epidermis tief im subkutanen Fettgewebe (Chase, Rauch u. Smith 1951).

ANAGEN V (7. - 8. Tag des Haarzyklus): Das Haar hat die Höhe des Talgdrüsenausführungsganges passiert und hier die innere Wurzelscheide zurückgelassen. Die Spitze des Haares befindet sich in Höhe der Epidermis im Follikelostium. Der Haarbulbus hat seinen größten Durchmesser erreicht. Die dermale Haarpapille ist noch schmaler geworden.

ANAGEN VI (9. - 18. Tag des Haarzyklus): Auftauchen des Haares an der Oberfläche. Volles Haarwachstum ohne weitere sichtbare Formveränderung am Haarbulbus.

Insgesamt ergibt sich somit für den durch Epilation von Kolbenhaaren ausgelösten Haarzyklus bei der Maus folgende chronologische Entwicklung:

ANAGEN 1. - 18. Tag

CATAGEN 19. - 20. Tag

TELOGEN 21. - 30. Tag (Chase, Montagna u. Malone 1953)

2. Die mitotische Aktivität der Haarmatrixzellen während des Haarzyklus

Es ist verständlich, daß bei einem solchen zu aktivster Tätigkeit angeregten und befähigten System, wie es der Haarfollikel darstellt, insbesondere die Matrix zur Aufrechterhaltung der mitotischen Aktivität eine laufende Energiezufuhr notwendig hat. Die Blutversorgung ist in vivo als Voraussetzung für eine genügende Versorgung der Follikel mit Nährstoffen anzusehen. Für in Vitro-Versuche verlangte daher Mehranfar (1961) entsprechende Bedingungen, die eine ausreichende Versorgung der Follikel mit Nährstoffen sicherstellen. Während die bisherigen Ergebnisse in der Literatur sehr schwankend waren, kommt H. Ohnacker (1960) aus der Klinik für Haut- und Geschlechtskrankheiten der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz nach grundlegenden Untersuchungen zur Feststellung der mitotischen Aktivität der Matrix während des gesamten Haarzyklus zu nachfolgend dargelegten Beobachtungen:

Die Mitoserate des durch mechanische Epilation induzierten Haarzyklus zeigt vom 2. Tag an einen kontinuierlichen Anstieg, um am 12. Tag (Anagen VI) mit durchschnittlich 17 Mitosen pro Bulbus ihren höchsten Wert zu erreichen. Nach dem 12. Tag, d.h. noch in der Mitte von Anagen VI, erfolgt ein langsamerer Ablauf der Mitosen bis zum 18. Tag, also bis zum Beginn des Catagens.

Im Übergangsstadium von Anagen VI bis zur Catagenphase (18. - 20. Tag) wird der niedrigste Mitosewert bis 12 Mitosen pro Bulbus erreicht.

Im Telogen (20. - 26. Tag) kommt es zu keiner nennenswerten Änderung der Mitosewerte. Am 28. Tag erfährt die Mitoserate wieder ein signifikantes Ansteigen, womit sich der Beginn einer Anagenphase (Anagen I) des zweiten Haarzyklus anzeigt.

Wir erwähnen abschließend ergänzend kurz die aus der Literatur uns bekannten bisherigen Ergebnisse. Giovannini (1890) beschrieb für die Mitosen die typische Lagerung um die Papille, wobei bemerkt wird, daß sie die Spitze der Papille nicht überschreiten, was von Bullough u. Laurence (1958) bestätigt wird. Von den gleichen Autoren wurde hinsichtlich der Mitoserate festge-

stellt, daß sich im vollaktiven Follikel vier Stunden nach Colchizinbehandlung (0,1 mg Colchizin und 0,25 cc physiologische Kochsalzlösung subkutan) 18 Mitosen befinden.

Kirsch (1961) aus der Hautklinik der Johannes Gutenberg-Universität Mainz macht mit Recht darauf aufmerksam, daß bei diesen Untersuchungen nicht darauf geachtet wurde, daß Phasengleichheit der einzelnen Follikel bestand. Von Bullough u. Laurence (1958) wurden als Prozentsatz der Mitosen zur Gesamtzellzahl der Matrix dieser Follikel 30 % angegeben. Montagna (1956) traf die Feststellung, daß fünf Stunden nach Colchizinbehandlung sogar 100 % der Matrixzellen mitotisch aktiv seien. Strauss u. Kligman (1954) die am 9. oder 14. Tag des Haarzyklus 0,1 ccm Colchizin injizierten, fanden 15 % Mitosen.

Wie eingangs erwähnt, ist in vivo eine ausreichende Blutversorgung als Vorbedingung für die Ernährung der Follikel anzusehen. So stellten Haddow u. Rudall (1945) und Durward u. Rudall (1949) fest, daß während des aktivsten Wachstums des Haares die Blutgefäße in engster Verbindung mit dem Follikel stehen. Demgegenüber konnte Hardy (1952) bei der Maus vor der Geburt eine solche Verbindung nicht nachweisen. Dazu hat Ryder (1958) interessante Beobachtungen beim Wollwachstum der Schafe veröffentlicht, insofern als er mitteilte, daß eine durch hohe Temperaturen verursachte Gefäßerweiterung konsekutiv auch durch die damit verbundene erhöhte Zufuhr von Nährstoffen zu dem Follikel das Wollwachstum beschleunigen. Andererseits stellten Löwenthal u. Montagna (1955) fest, daß eine an Kalorien eingeschränkte Diät bei Mäusen das Wachstum der Haare herabsetzt. Bezüglich der hormonalen Beeinflussung kommt Mohn (1958) zur Feststellung, daß Östrogene die ganze Periode des Haarwachstums verlängern. Jede hormonale Störung bewirke bei Ratten eine Veränderung im Wachstum der Follikel. Es könne sogar aus der Beobachtung entweder eines aktiven Follikelwachstums oder eines Wachstumsstillstandes auf eine hormonale Störung geschlossen werden. Nach dem gleichen Autor sollen männliche Hormone eine Vergrößerung des Felles beschleunigen, während ovarielle Hormone dies unterbinden und das Haarwachstum eindämmen. Weiterhin wurde von obengenannten Autoren festgestellt, daß während der Schwangerschaft und Laktation der Ablauf der Haarwachstumszyklen verringert wird, während demgegenüber das Wachstum eine Steigerung erfährt, und zwar vorübergehender Natur für den Zeitraum, wo die Jungen von der Mutter weggenommen werden.

Die Untersuchungen von Braun-Falco (1960 und Braun-Falco u. Theisen (1959) brachten den Nachweis, daß eine mitotisch aktive Matrix-

zelle im Haarwachstumszyklus der Ratte auf Störungen des Stoffwechsels gegenüber anderen Follikelstrukturen die empfindlichste Reaktion zeigt, insofern als das Resultat eine Einstellung der mitotischen Aktivität, ferner Degeneration und schließlich weitgehende Veränderungen im Haarfollikel aufweist. Braun-Falco (1960) wies in einer Arbeit über sogenannte "Dysfermentien" im Haarfollikel nach, daß derartige Substanzen, die eine Dysfermentie bewirken, entweder direkt oder hämatogen zum Haarfollikel gelangen können.

3. Grundlagen der Versuchsanordnung und ihre Beeinflussung bei Untersuchungen über das Haarwachstum

Wie aus den bisherigen Ausführungen über den Haarwachstumszyklus der Albino Maus mit seinem zyklischen Verlauf ohne weiteres erkennbar ist, werden experimentelle Untersuchungen über das Haarwachstum durch gleichzeitiges Vorhandensein verschiedener Wachstumsperioden in einem umschriebenen Hautbezirk erschwert. Um vergleichbare Feststellungen treffen zu können, ist es notwendig, eine einheitliche Versuchsgrundlage zu schaffen. Diese einheitliche Versuchsgrundlage erfordert besonders die übereinstimmende zeitliche Fixierung der einzelnen Wachstumsperioden des Haares (Synchronisation des Haarzyklus).

Aus der Literatur ist eine Methode bekannt, die es ermöglicht, Phasengleichheit der Follikel in einem Hautbezirk zu erreichen. Es handelt sich um die mechanische Epilation. Bereits Giovannini (1890) traf die Feststellung, daß Haarfollikel nach Epilation heftige mitotische Aktivität zeigen. Aus den Untersuchungen von Collins (1918) und David (1934) geht hervor, daß mechanische Epilation der Kolbenhaare eine stimulierende Wirkung auf das Haarwachstum ausübt. In der schon mehrfach zitierten Arbeit von Chase (1954) wird bestätigt, daß es möglich ist, durch Epilieren der Haare im Telogen im epilierten Bezirk eine neue Haargeneration sich entwickeln zu lassen. Haare dieses bestimmten umschriebenen Bezirks stehen nicht in Einklang mit den Wachstumsphasen der umgebenden Haarwachstumszyklen. Unter sich zeigen die Haare dieses umschriebenen Haarbezirks jedoch Phasengleichheit (Collins 1918).

Es wurde also durch Epilation eine Synchronisation erreicht. Die Follikel dieses Bezirks zeigen auch im Verlaufe späterer Haargenerationen unabhängiges Wachstum gegenüber jenen des übrigen Körpers.

Nach Chase, Rauch u. Smith (1951) erfolgt der Beginn des Wachstums, das durch Epilation bewirkt wird, meistens 1 - 2 Tage nach dem Epilationsreiz.

Als brauchbare Substanz haben wir für unsere Untersuchungen Colchizin verwendet, das ein mitosehemmendes Medikament darstellt.

Von Brues (1936), Dustin (1919 u. 1934), Lits (1934) u. Sentein (1942) erfolgte der Hinweis, daß durch Colchizin Mitosen in der Metaphase gehemmt werden. Allen (1959) fand, gestützt auf die Arbeiten von Dustin (1919 u. 1934) u. Lits (1934), für die Maus eine Dosis von 0,1 mg Colchizin als wirksame Dosis zur Arretierung der Mitosen in der Metaphase. Er applizierte Colchizin in physiologischer Kochsalzlösung oder Aqua dest. subkutan und ließ es über eine Zeit von 9 1/2 Stunden einwirken. Demgegenüber halten Leblond u. Stevens (1948) eine Einwirkungsdauer von 6 Stunden für ausreichend, da nach dieser Zeit ein Absinken der in der Metaphase arretierten Mitosen festgestellt wurde. Hans Ohnacker (1960) bemerkte auf Grund seiner Untersuchungen aus der Universitäts-Hautklinik, Mainz, daß: "die Periode von 9 1/2 Stunden, wie sie von Allen (1957) als Wirkungsdauer des Colchizins zur Mitosehemmung angegeben wurde, zweifach zu lang ist. 0,1 mg Colchizin darf auf die Maus nicht länger als 4 - 5 Stunden einwirken, wenn das Abweichen der Mitoserate vom Normalen durch Nebenwirkung des Colchizins ausgeschlossen werden soll. Aus den Arbeiten von Bullough (1949) geht hervor, daß nach dieser 5-Stunden-Periode das Colchizin die mitotische Aktivität hemmt, indem es verhindert, daß mehr ruhende Zellen in die Prophase eintreten".

Auf Grund dieser vorstehend angegebenen Daten haben wir bei unseren Untersuchungen gleichfalls eine Dosis von 0,1 mg Colchizin, gelöst in physiologischer Kochsalzlösung, appliziert, unter Beachtung einer Einwirkungsdauer von 5 Stunden.

4. Problemstellung der vorliegenden Untersuchungsreihen

Wie wir gesehen haben, spielen sich im wachsenden Haarfollikel normalerweise ständig Mitosen ab. Es erhebt sich nun die Frage: Durch welche einwirkende Substanzen läßt sich die mitotische Aktivität eines Haarfollikels entscheidend beeinflussen.

Da die Haarmatrixzellen wie jede andere Körperzelle als Hauptenergiequelle Kohlenhydrate benötigen und sich so in ihr ein ständiger Abbau von Glukose vollzieht, ist es leicht verständlich, solche Stoffe zur Untersuchung der mitotischen Aktivität zu verwenden, die im Kohlenhydratstoffwechsel eine entscheidende Rolle spielen wie Glukose-6-Phosphat, Fruktose-6-Phosphat und α -Liponsäure. Es wäre von Bedeutung zu wissen, ob und wie weit diese Substanzen in bestimmten festzustellenden Konzentrationen einen Einfluß auf die mitotische Aktivität des Haarfollikels haben.

Es liegt nahe, die mitotische Aktivität in der Haarmatrix mit der in Tumoren zu vergleichen. Beide Zellarten zeichnen sich durch hohe Biosyntheseleistung aus. Würde man nun eine besondere direkte Einwirkung der oben genannten Substanzen auf die mitotische Aktivität der Haarmatrixzellen feststellen, so wäre es ratsam, auch deren Einwirkung auf die mitotische Aktivität einer Tumorzelle zu untersuchen. So haben auch Cytostatica vergleichsweise einen starken Effekt auf die mitotische Aktivität von Haarmatrixzellen im Sinne einer Hemmung.

II. EIGENE VERSUCHE - ANORDNUNG UND ERGEBNISSE

1. Über die Wirkung der α -Liponsäure, Glukose-6-Phosphat, Fruktose-6-Phosphat und auf die mitotische Aktivität im Haarbulbus der Albinomaus und deren Bedeutung im Kohlenhydratstoffwechsel

Wie wir eingangs erwähnt haben, wird die Blutversorgung im vivo als notwendige Voraussetzung für die ausreichende Versorgung der Follikel mit Nährstoffen betrachtet. Kohlenhydrate stellen bekanntlich eine sehr gute Energiequelle für das Leben der Zellen und somit der Haarmatrixzellen dar. Die in den Kohlenhydraten aufgespeicherte Energie wird durch aerob oder anaerob sich vollziehende Abbauvorgänge frei. In vivo erfolgt vor dem oxydativen Abbau der Kohlenhydrate ein anaerober Abbau bis zur Brenztraubensäure (Lehnartz 1943).

Bei den von uns untersuchten Substanzen handelt es sich einerseits um die α -Liponsäure, ein Coenzym, welches an der oxydativen Dekarboxylierung der Brenztraubensäure, die eine zentrale Stellung im Stoffwechselgeschehen einnimmt, beteiligt ist, andererseits um Stoffwechselmetyboliten (Glukose-6-Phosphat, Fruktose-6-Phosphat), den Zwischenstoffwechselprodukten zugehörig, die bei anaerobem Abbau der Kohlenhydrate in der Zelle auftreten.

Im Hinblick auf eine ausreichende Energieversorgung der Haarmatrixzellen durch Kohlenhydrate wurde der mitotischen Aktivität dieser Zellen unter dem Einfluß der vorstehend genannten Substanzen besondere Aufmerksamkeit geschenkt.

α -Liponsäure:

Die Thioctsäure^{†)}, die früher wegen ihrer Löslichkeit in Fettlösungsmitteln und wegen ihres Säurecharakters als α -Liponsäure bezeichnet wurde, gehört zu den Biokatalysatoren, d.h. zu den Substanzen, die in kleinen Mengen Förderung des Wachstums von Mikroorganismen, Bakterien und Protozoen beeinflussen können.

Kidder u. Dewey (1945 u. 1956) berichten, daß die Ciliate Tetrahymena

^{†)} Das Literaturverzeichnis zu dem Abschnitt α -Liponsäure, entnommen von dem Referat: Chemie u. Biochemie der α -Liponsäure von Dr. Hans Grisebach, Organisch-Chemisches Institut der Technischen Universität, Berlin-Charlottenburg 2, Straße des 17. Juni Nr. 115, ist alphabetisch extra geordnet. (Angew. Chem./68. Jahrg. 1956/Nr. 17/18. -s. S. 51)

pyriformis außer dem üblichen Medium eine Substanz, aus Leber erhältlich, zum Wachstum braucht. Stockstadt u. Mitarb. (1945) untersuchten diesen Faktor näher. Sie fanden, daß dieser Faktor in 2 Formen vorkommt, gaben diesem den Namen Protogen A und B, da es ein Wachstumsfaktor für Protozoen war. O' Kane u. Gunsalus (1948) beobachteten, daß ein unbekannter Faktor aus Hefe an der Oxydation von Brenztraubensäure durch ruhende Zellen eines bestimmten Streptokokkenstammes (*Streptococcus faecalis*) teilnimmt. Sie nannten diesen Faktor "pyruvate oxydation factor" (BTS-Oxydations-Faktor). Reed, De Buske, Gunsalus u. Hornberger (1951) gelang es erstmalig, eine kristallisierte Verbindung aus Leber zu gewinnen, die als Kofaktor für die Brenztraubensäureoxydation in *Streptococcus faecalis* diene. Auf Grund der Löslichkeit in Fettlösungsmitteln und des Säurecharakters wurde die Verbindung, wie bereits eingangs erwähnt, α -Liponsäure (Lipoic acid) genannt. Die Bezeichnung β -lipoic acid erhielt ein zweiter aktiver Faktor, der sich später als das Sulfoxyd der α -Liponsäure erwies.

Chemische Eigenschaften und Strukturaufklärung der α -Liponsäure:

1952 erfolgte die Aufklärung der Strukturformel dieser Schwefel-Kohlenstoffverbindung als 6,8-Dithiocaprylsäure: Die Strukturaufklärung gelang gleichzeitig Reed u. Mitarb. (1951 u. 1953) sowie der Lederle-Gruppe (1954).

Ihr jetziger Name "Thiolic acid" oder Thioctsäure ist abgeleitet von ihrer reduzierten Form, einer Dithioctansäure. Thioctsäure mit einem pH von 4,7 ist in festem Zustand verhältnismäßig stabil, in gelöstem Zustand besteht die Neigung zur Polymerisation, besonders in Gegenwart von Licht.

Über Toxizität und Wirkungsweise führen wir folgendes aus: Die Testung auf akute Toxizität bei der Maus nach intraperitonealer Applikation von Thioctsäure ergab eine Dosis letalis 50 von 275 mg pro kg Körpergewicht. Intraperitoneal werden 100 mg pro kg Körpergewicht von allen Tieren vertragen. Die Prüfung der chronischen Toxizität am Meerschweinchen nach 20-tägiger intraperitonealer Applikation von 10 und 15 mg pro kg Körpergewicht Thioctsäure täglich ergab keinerlei Anhaltspunkte für Intoxikationserscheinungen. α -Liponsäure ist eine natürlich vorkommende Substanz in Pflanzenzellen und tierischen Organzellen mit der größten Konzentration in der Leber (Kidder u. Dewey 1944, 1945 u. 1956 und Stockstad u. Mitarb. 1949).

Eine für unsere Untersuchungen bemerkenswerte Tatsache ist, daß zusätzliche Gaben von α -Liponsäure unter geeigneten Ernährungsbedingungen bei Ratten und Kühen Wachstumssteigerung und verbesserte Nahrungsverwertung hervor-

rufen (Businco u. Mitarb. 1958 und De Busk u. Williams 1955).

α -Liponsäure ist biologisch sehr aktiv. Sie wirkt sowohl in oxydierter Form (S-S) als auch in reduzierter Form ($\cdot$ SH/ $\cdot$ SH) im Kohlenhydrat-Stoffwechsel als Kofaktor der oxydativen Dekarboxylierung der β -Ketosäure.

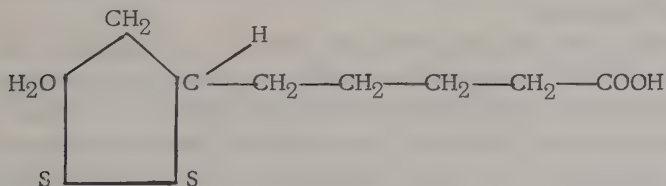
Gunsalus (1954) erachtet als Hauptangriffspunkt der α -Liponsäure einen Funktionsbereich im Oxydationssystem der Brenztraubensäure zwischen Cocarboxylase (Thiaminpyrophosphat) und Coenzym A. Sie katalysiert die Azetylierung des Coenzym A.

Allein diese Tatsache erhellt ihre Wichtigkeit im Rahmen des Stoffwechselgeschehens. Dieser Vorgang ist schließlich unentbehrlich für die Bildung von Azetylphosphat, für übrige Azetylierungsprozesse und für den Ablauf des Zitronensäurezyklus (Boni u. Mitarb. 1955).

Bekanntlich wird der Kohlenhydrat-Abbau bis zur Brenztraubensäure in anaeroben Reaktionen durchlaufen. Auf der Brenztraubensäurestufe erfolgt die Einleitung der aeroben Phase der Zuckerverbrennung durch Dehydrierung der Brenztraubensäure, wobei "aktivierte Essigsäure" unter Freiwerden von CO_2 gebildet wird.

Aus chemisch-physiologischen Untersuchungen ist bekannt, daß Coenzym A, Diphosphoryridinnucleotid, Thiaminpyrophosphat, Thioctsäure und Magnesiumionen bei diesem komplexen Geschehen entscheidende Bedeutung haben (Korkes u. Mitarb. 1951 u. 1952 und Reed u. Mitarb. 1951).

Geht aus der Literatur über die therapeutische Verwendbarkeit der α -Liponsäure hervor, daß diese bei Hepatopathien (Coma hepaticum etc.) indiziert ist, insofern als bei Lebererkrankungen, die katalytischen Funktionen im Kohlenhydrat-, Eiweiß- und Fettstoffwechsel gestört sind, so liegen andererseits aus der uns bekannt gewordenen Literatur bisher keinerlei Hinweise vor über die Anwendung von α -Liponsäure bei Haarwachstumsstörungen.



α -Liponsäure

Glukose-6-Phosphat und Fruktose-6-Phosphat:

Über die vorgenannten Phosphatester des Zuckers ist (nach Karlson) bekannt, daß diese zu einer Gruppe von Verbindungen gehören, die entweder in freier Form oder in Verbindung größerer Moleküle als chemische Bausteine des Körpers fungieren oder als Durchgangsstufe bei Aufbau, Abbau und Umbau der Kohlenhydrate durchlaufen werden müssen. Von dem Hexosen-Phosphat ist am längsten bekannt die von Harden u. Jang bei Hefegärung entdeckte Fruktose 1, 6 Diphosphat, die auch im Muskelpreßsaft gefunden wurde, hingegen in frischer Muskulatur nicht nachgewiesen werden konnte. Hier werden stattdessen Diglukosephosphat und das mit ihr in einem enzymatischen Gleichgewicht stehende D-Fruktose-6-Phosphat (Neuberg Ester) gefunden, ein Gemisch, das in chemisch-physiologischer Literatur als Embden-Robison-Ester bezeichnet wurde.

Die Blutversorgung in vivo wird als notwendige Voraussetzung für die ausreichende Versorgung der Follikel mit Nährstoffen betrachtet. Kohlenhydrate stellen bekanntlich eine sehr gute Energiequelle für das Leben der Zellen und somit der Haarmatrixzellen dar. Die in den Kohlenhydraten aufgespeicherte Energie wird durch aerob oder anaerob sich vollziehende Abbauvorgänge frei. In vivo erfolgt vor dem oxydativen Abbau der Kohlenhydrate ein anaerober Abbau bis zur Brenztraubensäure (Lehnartz 1943), welchen man die Glykolyse bezeichnet und der sich wie folgt abspielt:

Der Abbau von Kohlenhydrate kann ausgehen von Glukose oder Glykogen. Der Abbau der Glukose wird eingeleitet durch Übertragung eines Phosphatrestes aus Adenosintriphosphorsäure durch das Ferment Hexokinase, wodurch Glukose-6-Phosphat entsteht.

Der Abbau des Glykogens beginnt mit der phosphorolytischen Abspaltung des am nicht reduzierenden Ende einer Hauptkette des Glykogens stehenden Glukosemoleküls durch die Phosphorylase, wobei Glukose-1-Phosphat entsteht. Glukose-1-Phosphat kann durch das Ferment Phosphoglukomutase in Glukose-6-Phosphat umgewandelt werden.

Durch Isomerisierung können Glukose-6-Phosphat und Fruktose-6-Phosphat ineinander übergeführt werden.

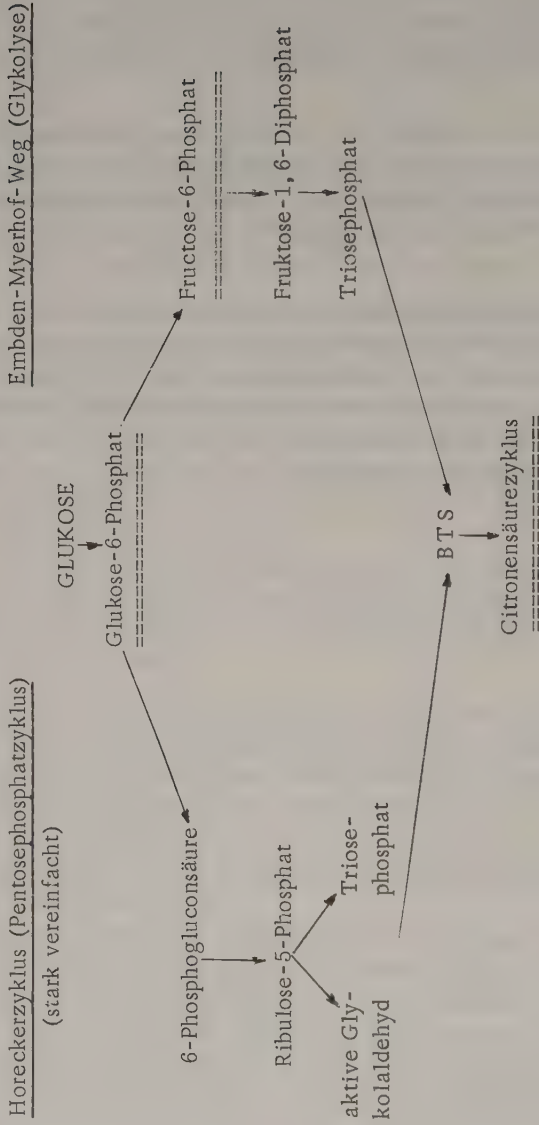
Der nächste Schritt ist die Phosphorylierung zu Fruktose-1, 6-Diphosphat. Es folgt nun eine Spaltung in die beiden Triosephosphate, Dihydroxyacetonphosphat und Glycerinaldehydphosphat durch das Ferment Aldolase. Zwischen diesen beiden Triosephosphaten besteht ein Gleichgewicht, welches durch eine Isomerase vermittelt wird. Die weitere Umsetzung geht von Glycerinaldehydphosphat aus. Es handelt sich um eine mit einer Phosphataufnahme gekoppelte Dehydrierung desselben zu 1, 3 Diphosphorglycerinsäure (Substratphosphorylierung).

Durch das Ferment Diphosphoglycerinsäurediphosphorylase wird die 1,3 Diphosphoglycerinsäure zu 3-Phosphoglycerinsäure dephosphoryliert, welche durch Phosphoglykeromutase in 2-Phosphoglycerinsäure umgelagert wird. Sodann erfolgt eine Verwandlung in Phosphoenaldehyd durch das Ferment Enolase. Durch die Pyruvatkinase wird die entstandene energiereiche Phosphatbildung auf Adenosindiphosphorsäure übertragen, so daß Brenztraubensäure entsteht.

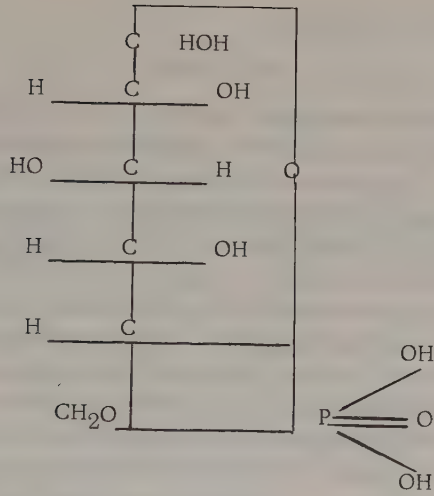
In der neuen Zeit hat man entdeckt, daß die Zelle beim Abbau der Glukose bis zur Brenztraubensäure neben dem oben geschilderten Weg der Glykolyse auch noch einen anderen zur Verfügung hat. Nach seinem Entdecker heißt er Horeckerzyklus oder nach den entstehenden Substanzen Pentosephosphatzyklus.

Zellen, in denen bevorzugt Biosynthesen vorgenommen werden, nehmen den Glukoseabbau in der Tat zum größten Teil über den Horeckerzyklus vor (z. B. Krebszellen, Tumorzellen). Der Grund liegt darin, daß die Dehydrierung beim Horeckerzyklus ausschließlich vom Triphosphorpyridinnukleotid (TPN) vorgenommen werden. Diese Dehydrogenasen werden dann von den Zellen zu Biosynthesen, d. h. Hydrierung, verwandt.

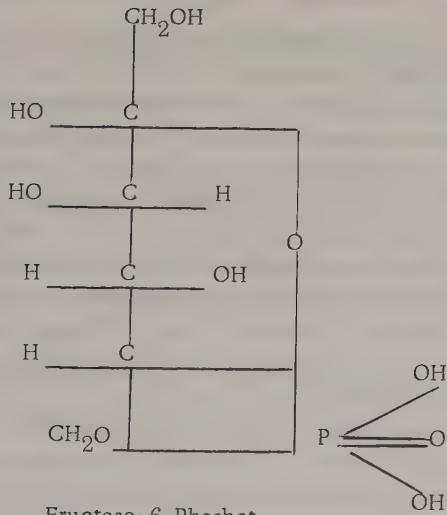
Folgendes Schema zeigt noch einmal zusammenfassend die beiden Möglichkeiten des Glukoseabbaus



Aus obigem Schema und aus der Tatsache heraus, daß beim Horeckerzyklus unter anderem auch Fructose-6-Phosphat als Zwischenprodukt auftritt, ersehen wir die Bedeutung des Glukose-6-Phosphat und des Fuktose-6-Phosphat im Kohlehydratstoffwechsel.



Glukose-6-Phosphat



Fructose-6-Phosphat

2. Versuchsanordnung

Methodik:

Für die Versuche verwendeten wir 21 Tage alte männliche Albinomäuse. In einem Hautbezirk von etwa 3-4 cm² auf dem Rücken der Mäuse wurde durch Epilation der Telogenhaare in Narkose für unsere Untersuchungen ein neuer Haarzyklus eingeleitet und synchronisiert. 10 Tage nach der Epilation (Anagen V) waren die nachgewachsenen Haare gerade an der Hautoberfläche zu sehen. Zu diesem Zeitpunkt wurden die Tiere mit den von uns zu untersuchenden Substanzen in serienmäßiger Aufteilung behandelt und 5 Stunden später durch Nackenschlag getötet. Von jedem Tier entnahmen wir symmetrisch rechts und links zwei gleichgroße Hautläppchen (bis auf die Fascie) aus der durch Epilation gekennzeichneten Rückenpartie. Diese Hautläppchen wurden auf Korkplatten befestigt ohne daß die Haut in einen Spannungszustand kam. Wir fixierten diese für die Dauer von 12 Stunden in Bouin'scher Lösung (Bullough u. Jahnsen), wegen der besseren Darstellung der Mitosen als bei Fixierung mit Formalin. Daraufhin erfolgte die Entwässerung der Hautläppchen durch Einlegen in Alkohol in steigenden Konzentrationen, worauf wir die Einbettung in Paraffin bei (60°) 12 Stunden durchführten.

Weiterhin wurden Serienschritte von 5 µ Dicke angefertigt, und zwar von jedem Hautläppchen mindestens 25, d.h. von jedem Tier 50.

Die Schnittebene lag dabei senkrecht zur Hautoberfläche, möglichst in der Achse der Haarfollikel. Die Schnitte wurden sodann in üblicher Weise entparaffiniert und mit Hämalun nach Hansen (10 Minuten) und 0,1 %iger Erythrosinlösung (2 Minuten) gefärbt. Die gefärbten Schnitte wurden in aufsteigender Alkoholreihe entwässert, wobei der Alkohol durch Xylol entzogen wurde. Anschließend wurden die Präparate mit Kanadabalsam eingebettet. Es wurden alle Serienschritte durchgemustert und nur in den längsgeschnittenen Haaren wurden die Mitosen in den Haarbulbi gezählt, wobei darauf geachtet war, die Mitosezahlen in den Haarbulbi unter dem Mikroskop nur bis zur Höhe der Papillenspitze zu registrieren.

Die Zählung der Mitosen geschah folgendermaßen: Um eine vielfache Zählung derselben Haarbulbi zu vermeiden, zählten wir die Mitosen in jedem achten Schnitt. Wir stellten von jedem Hautschnitt 2 histologische Präparate her. Bei jedem Tier wurden die Mitosen in 250 längsgeschnittenen Haarfollikel gezählt.

Alle Zählungen wurden von 2 Personen durchgeführt.

3. Ergebnisse

In unseren Versuchen trafen wir folgende Gruppeneinteilung im Hinblick auf die mitotische Aktivität:

- A. Versuchsserie mit 58 weißen Mäusen (21 Tage alt) und Testung von α -Liponsäure.
 - B. Versuchsserie mit 30 weißen Mäusen (21 Tage alt) und Testung von Glukose-6-Phosphat.
 - C. Versuchsserie mit 15 weißen Mäusen (21 Tage alt) und Testung von Fruktose-6-Phosphat.
- A. Wie bereits eingangs erwähnt, epiliierten wir am hinteren Rückenabschnitt die Haare in einem etwa 3-4 cm² Areal bei 58 weißen Mäusen (21 Tage alt). 10 Tage später unterteilten wir die Tiere in 14 Gruppen und verwandten folgende Testsubstanzen:
- a) Colchizin
 - b) Physiologische Kochsalzlösung (steril)
 - c) α -Liponsäure

Bei der Gruppe 1 wurde als Testsubstanz nur 0,1 mg Colchizin verwandt.

Bei Gruppe 2 und 3 wurden 0,1 mg Colchizin + 0,2 cc Physiologische Kochsalzlösung (steril) subcutan bzw. intraperitoneal verwandt.

Bei Gruppe 4-14 schließlich jeweils 0,1 mg Colchizin + α -Liponsäure subcutan bzw. intraperitoneal in fallenden Konzentrationen verwendet.

Die Tötung der Tiere durch Nackenschlag erfolgte jeweils 5 Stunden nach der Behandlung, wobei wir die Zeiten jeweils für die Behandlung und Tötung gesondert angeben.

Wir erhielten bei 250 längsgeschnittenen Haarfollikeln, aufgeteilt in die Gruppen 1-14, folgende Ergebnisse.

Gruppe 1 :

Anzahl der Versuchstiere 4 Albinomäuse

Behandlung: 11.15 Uhr Tötung: 16.15 Uhr

Injiziert wurde 0,1 mg Colchizin subcutan.

bei Tier a wurden gezählt: 3163 Mitosen
bei Tier b wurden gezählt: 4716 Mitosen
bei Tier c wurden gezählt: 3261 Mitosen
bei Tier d wurden gezählt: 3220 Mitosen

Gruppe 2 :

Anzahl der Versuchstiere 4 Albinomäuse

Behandlung: 11.20 Uhr Tötung: 16.20 Uhr

Injiziert wurden 0,1 mg Colchizin + 0,2 cc physiologische Kochsalzlösung subcutan.

bei Tier a wurden gezählt: 1510 Mitosen
bei Tier b wurden gezählt: 845 Mitosen
bei Tier c wurden gezählt: 1201 Mitosen
bei Tier d wurden gezählt: 1881 Mitosen

Gruppe 3 :

Anzahl der Versuchstiere 4 Albinomäuse

Behandlung: 11.25 Uhr Tötung: 16.25 Uhr

Injiziert wurden 0,1 mg Colchizin + 0,2 cc physiologische Kochsalzlösung intraperitoneal.

bei Tier a wurden gezählt: 1989 Mitosen
bei Tier b wurden gezählt: 1981 Mitosen
bei Tier c wurden gezählt: 3501 Mitosen
bei Tier d wurden gezählt: 1396 Mitosen

Gruppe 4 :

Anzahl der Versuchstiere 4 Albinomäuse

Behandlung: 11.30 Uhr Tötung: 16.30 Uhr

Injiziert wurden 0,1 mg Colchizin + 0,5 cc (= 2,5 mg) ω -Liponsäure subcutan.

bei Tier a wurden gezählt: 860 Mitosen
bei Tier b wurden gezählt: 1067 Mitosen
bei Tier c wurden gezählt: 287 Mitosen
bei Tier d nach Applikation des Medikamentes gestorben

Gruppe 5 :

Anzahl der Versuchstiere 4 Albinomäuse

Behandlung: 11.40 Uhr Tötung: 16.40 Uhr

Injiziert wurden 0,1 mg Colchizin + 0,5 cc (= 2,5 mg) ω -Liponsäure intraperitoneal.

bei Tier a wurden gezählt: 1186 Mitosen
bei Tier b wurden gezählt: 992 Mitosen
bei Tier c nach Behandlung gestorben
bei Tier d ebenfalls nach Behandlung gestorben

Gruppe 6 :

Anzahl der Versuchstiere 4 Albinomäuse
Behandlung: 11.50 Uhr Tötung: 16.50 Uhr
Injiziert wurden 0,1 mg Colchizin + 0,2 cc (= 1,0 mg) ω -Liponsäure
subcutan.
bei Tier a wurden gezählt: 1871 Mitosen
bei Tier b nicht verwendbar, da kein synchronisierter Haarzyklus
bei Tier c wurden gezählt: 1818 Mitosen
bei Tier d wurden gezählt: 1939 Mitosen

Gruppe 7 :

Anzahl der Versuchstiere 4 Albinomäuse
Behandlung: 11.55 Uhr Tötung: 16.55 Uhr
Injiziert wurden 0,1 mg Colchizin + 0,2 cc (= 1,0 mg) ω -Liponsäure
intraperitoneal.
bei Tier a wurden gezählt: 1230 Mitosen
bei Tier b wurden gezählt: 1321 Mitosen
bei Tier c wurden gezählt: 989 Mitosen
bei Tier d wurden gezählt: 1004 Mitosen

Gruppe 8 :

Anzahl der Versuchstiere 4 Albinomäuse
Behandlung: 12.25 Uhr Tötung: 17.25 Uhr
Injiziert wurden 0,1 mg Colchizin + 0,2 cc (= 0,5 mg) ω -Liponsäure
subcutan.
bei Tier a wurden gezählt: 1537 Mitosen
bei Tier b wurden gezählt: 1871 Mitosen
bei Tier c wurden gezählt: 2859 Mitosen
bei Tier d nach Behandlung gestorben

Gruppe 9 :

Anzahl der Versuchstiere 4 Albinomäuse
Behandlung: 12.35 Uhr Tötung: 17.35 Uhr
Injiziert wurden 0,1 mg Colchizin + 0,2 cc (= 0,5 mg) ω -Liponsäure
intraperitoneal.

bei Tier a wurden gezählt: 1559 Mitosen
bei Tier b wurden gezählt: 1166 Mitosen
bei Tier c wurden gezählt: 1236 Mitosen
bei Tier d wurden gezählt: 2226 Mitosen

Gruppe 10 :

Anzahl der Versuchstiere 4 Albinomäuse
Behandlung: 12.45 Uhr Tötung: 17.45 Uhr
Injiziert wurden 0,1 mg Colchizin + 0,2 cc (= 0,2 mg) ω -Liponsäure
subcutan.

bei Tier a wurden gezählt: 2636 Mitosen
bei Tier b wurden gezählt: 1826 Mitosen
bei Tier c wurden gezählt: 1343 Mitosen
bei Tier d wurden gezählt: 1115 Mitosen

Gruppe 11 :

Anzahl der Versuchstiere 4 Albinomäuse
Behandlung: 12.55 Uhr Tötung: 17.55 Uhr
Injiziert wurden 0,1 mg Colchizin + 0,2 cc (= 0,2 mg) ω -Liponsäure
intraperitoneal.

bei Tier a wurden gezählt: 1218 Mitosen
bei Tier b wurden gezählt: 1188 Mitosen
bei Tier c wurden gezählt: 895 Mitosen
bei Tier d wurden gezählt: 2064 Mitosen

Gruppe 12 :

Anzahl der Versuchstiere 4 Albinomäuse
Behandlung: 13.00 Uhr Tötung: 18.00 Uhr
Injiziert wurden 0,1 mg Colchizin + 0,2 cc (= 0,1 mg) ω -Liponsäure
subcutan.

bei Tier a wurden gezählt: 2061 Mitosen
bei Tier b wurden gezählt: 1141 Mitosen
bei Tier c wurden gezählt: 2475 Mitosen
bei Tier d wurden gezählt: 2904 Mitosen

Gruppe 13 :

Anzahl der Versuchstiere 5 Albinomäuse
Behandlung: 13.05 Uhr Tötung: 18.05 Uhr
Injiziert wurden 0,1 mg Colchizin + 0,2 cc (= 0,1 mg) ω -Liponsäure
intraperitoneal.

bei Tier a wurden gezählt: 2632 Mitosen
bei Tier b wurden gezählt: 2316 Mitosen
bei Tier c wurden gezählt: 1359 Mitosen
bei Tier d wurden gezählt: 1243 Mitosen
bei Tier e nicht verwendbar, da kein synchronisierter Haarzyklus

Gruppe 14 :

Anzahl der Versuchstiere 5 Albinomäuse

Behandlung: 13.30 Uhr Tötung: 18.30 Uhr

Injiziert wurden 0,1 mg Colchizin + 0,2 cc (= 0,01 mg) α -Liponsäure
subcutan.

bei Tier a wurden gezählt: 1895 Mitosen
bei Tier b wurden gezählt: 1409 Mitosen
bei Tier c wurden gezählt: 1348 Mitosen
bei Tier d wurden gezählt: 1482 Mitosen
bei Tier e wurden gezählt: 986 Mitosen

B. In dieser Versuchsserie wurden bei 30 weißen männlichen Mäusen (21 Tage alt) die Haare gleichfalls am hinteren Rückenabschnitt in 3-4 cm² große Areal ausgezupft. Wiederum 10 Tage später erfolgte eine Unterteilung der Tiere in 5 Gruppen, die nachfolgende Behandlung erhielten.

Bei Gruppe 1 verabfolgten wir von einer Stammlösung (3,0 g Glukose-6-Phosphat in 10 cc physiologischer Kochsalzlösung steril) 0,2 cc, d.h. eine Dosis von 0,06 Glukose-6-Phosphat.

Nach Herstellung einer Stammlösung von 1,5 g Glukose-6-Phosphat in 10 cc physiologischer Kochsalzlösung (steril) erhielt Gruppe 2:
0,2 cc Stammlösung = 0,03 g Glukose-6-Phosphat,

Gruppe 3: 1,0 cc Stammlösung + 9,0 cc physiologische Kochsalzlösung, wovon 0,2 cc zur Injektion verwandt wurden, d.h. eine Dosis von 0,003 g Glukose-6-Phosphat,

Gruppe 4: 0,5 cc Stammlösung + 9,5 cc physiologische Kochsalzlösung, wovon 0,2 cc zur Injektion dienten, d.h. eine Dosis von 0,0015 g Glukose-6-Phosphat.

Jeweils gaben wir zu diesen Dosen als mitosehemmende Substanz 0,1 mg Colchizin.

Bei Gruppe 5 (Kontrollgruppe verabfolgten wir 0,2 cc physiologische Kochsalzlösung steril). Auch hier gaben wir als mitosehemmende Substanz 0,1 mg Colchizin.

Wir erhielten bei 250 längsgeschnittenen Haarfollikeln, aufgeteilt in die Gruppen 1-5, folgende Ergebnisse.

Gruppe 1 :

Anzahl der Versuchstiere 5 Albinomäuse

Behandlung: 10.00 Uhr Tötung: 15.00 Uhr

Injiziert wurden 0,1 mg Colchizin + 0,2 cc Glukose-6-Phosphat-Lösung = 0,06 g subcutan.

bei Tier a wurden gezählt: 1616 Mitosen

bei Tier b wurden gezählt: 1580 Mitosen

bei Tier c wurden gezählt: 1501 Mitosen

bei Tier d wurden gezählt: 2105 Mitosen

bei Tier e wurden gezählt: 1870 Mitosen

Gruppe 2 :

Anzahl der Versuchstiere 5 Albinomäuse

Behandlung: 9.30 Uhr Tötung: 14.30 Uhr

Injiziert wurden 0,1 mg Colchizin + 0,2 cc Glukose-6-Phosphat-Lösung = 0,03 g subcutan.

bei Tier a wurden gezählt: 5521 Mitosen

bei Tier b wurden gezählt: 5865 Mitosen

bei Tier c wurden gezählt: 6456 Mitosen

bei Tier d wurden gezählt: 4934 Mitosen

bei Tier e wurden gezählt: 6170 Mitosen

Gruppe 3 :

Anzahl der Versuchstiere 5 Albinomäuse

Behandlung: 9.45 Uhr Tötung: 14.45 Uhr

Injiziert wurden 0,1 mg Colchizin + 0,2 cc Glukose-6-Phosphat-Lösung = 0,003 g subcutan.

bei Tier a wurden gezählt: 4243 Mitosen

bei Tier b wurden gezählt: 4719 Mitosen

bei Tier c wurden gezählt: 6140 Mitosen

bei Tier d wurden gezählt: 5400 Mitosen

bei Tier e wurden gezählt: 5723 Mitosen

Gruppe 4 :

Anzahl der Versuchstiere 5 Albinomäuse

Behandlung: 10.00 Uhr Tötung: 15.00 Uhr

Injiziert wurden 0,1 mg Colchizin + 0,2 cc Glukose-6-Phosphat-Lösung = 0,0015 g subcutan.

bei Tier a wurden gezählt: 1742 Mitosen

bei Tier b nicht verwendbar, da kein synchronisierter Haarzyklus

bei Tier c wurden gezählt: 1894 Mitosen

bei Tier d wurden gezählt: 1926 Mitosen

bei Tier e nicht verwendbar, da kein synchronisierter Haarzyklus

Gruppe 5 :

Anzahl der Versuchstiere 5 Albinomäuse

Behandlung: 10.15 Uhr Tötung: 15.15 Uhr

Injiziert wurden 0,1 mg Colchizin + 0,2 cc physiologische Kochsalzlösung subcutan.

bei Tier a wurden gezählt: 3684 Mitosen

bei Tier b wurden gezählt: 917 Mitosen

bei Tier c nicht verwendbar, da kein synchronisierter Haarzyklus

bei Tier d wurden gezählt: 1322 Mitosen

bei Tier e nicht verwendbar, da kein synchronisierter Haarzyklus.

C. In dieser Versuchsserie wurden bei 15 weißen männlichen Mäusen (21 Tage alt) die Haare ebenfalls am hinteren Rückenabschnitt in 3-4 cm² große Areal ausgezupft.

10 Tage später erfolgt wieder eine Unterteilung der Tiere in 3 Gruppen, mit nachfolgender Behandlung.

Verwendet wurde Fruktose-6-Phosphat in folgenden Konzentrationen:

Nach Herstellung einer Stammlösung (1,5 g trockene Fruktose-6-Phosphat in 10,0 cc physiologischer Kochsalzlösung steril) gaben wir der

Gruppe 1 :

0,2 cc der Stammlösung, d.h. eine Dosis von 0,03 g Fruktose-6-Phosphat.

Gruppe 2 :

1,0 cc der Stammlösung + 9,0 cc physiologische Kochsalzlösung, wovon 0,2 cc zur Injektion der Tiere, d.h. eine Dosis von 0,003 g Fruktose-6-Phosphat appliziert wurde.

Gruppe 3 :

Wir verwendeten 0,5 cc der Stammlösung + 9,5 cc physiologische Kochsalzlösung, wovon 0,2 cc zur Injektion der Tiere, d.h. eine Dosis von 0,001 g Fruktose-6-Phosphat verabfolgt wurde.

Auch hier bei allen 3 Gruppen wurde 0,1 mg Colchizin als mitosehemmende Substanz zusätzlich gegeben.

Bei 250 längsgeschnittenen Haarfollikeln, aufgeteilt in Gruppe 1-3, erhielten wir folgende Ergebnisse.

Gruppe 1 :

Anzahl der Versuchstiere 5 Albinomäuse

Behandlung: 10.00 Uhr Tötung: 15.00 Uhr

Injiziert wurden 0,1 mg Colchizin + 0,2 cc der Stammlösung = 0,03 Fruktose-6-Phosphat subcutan.

bei Tier a wurden gezählt: 2866 Mitosen

bei Tier b wurden gezählt: 2887 Mitosen

bei Tier c wurden gezählt: 2570 Mitosen

bei Tier d wurden gezählt: 2690 Mitosen

bei Tier e wurden gezählt: 1992 Mitosen

Gruppe 2 :

Anzahl der Versuchstiere 5 Albinomäuse

Behandlung: 10.30 Uhr Tötung: 15.30 Uhr

Injiziert wurden 0,1 mg Colchizin + 0,2 cc der Stammlösung = 0,003 g Fruktose-6-Phosphat subcutan.

bei Tier a wurden gezählt: 2284 Mitosen

bei Tier b wurden gezählt: 2049 Mitosen

bei Tier c wurden gezählt: 2205 Mitosen

bei Tier d wurden gezählt: 1892 Mitosen

bei Tier e wurden gezählt: 2276 Mitosen

Gruppe 3 :

Anzahl der Versuchstiere 5 Albinomäuse

Behandlung: 10.45 Uhr Tötung: 15.45 Uhr

Injiziert wurden 0,1 mg Colchizin + 0,2 cc der Stammlösung = 0,0015 g Fruktose-6-Phosphat subcutan.

bei Tier a wurden gezählt: 2571 Mitosen

bei Tier b wurden gezählt: 2258 Mitosen

bei Tier c wurden gezählt: 2115 Mitosen

bei Tier d wurden gezählt: 1932 Mitosen

bei Tier e wurden gezählt: 774 Mitosen

III. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Wir haben die bei der Untersuchung der einzelnen Testsubstanzen gefundenen nachfolgend angegebenen Mittelwerte und ihre Fehlerstreuungen statistisch ausgewertet.

1. Die Wirkung von α -Liponsäure auf die mitotische Aktivität anagener Haarfollikel der Albinomaus in vivo

Bei den Gruppen 2-13 wurde nachgeprüft, ob ein signifikanter Unterschied bezüglich der Applikationsform (subcutan oder intraperitoneal) besteht. Es ergab sich in keinem der 6 Vergleichskollektive ein signifikanter Unterschied. Wir können daher annehmen, daß die Applikationsform für das Versuchsergebnis keine Rolle spielt und fassen die Gruppen (2 + 3), (4 + 5), (6 + 7), (8 + 9), (10 + 11), (12 + 13) zu größeren Versuchsgruppen unter der Nomenklatur:

$$\begin{aligned} B &= (2 + 3) \\ C &= (4 + 5) \\ D &= (6 + 7) \\ E &= (8 + 9) \\ F &= (10 + 11) \\ G &= (12 + 13) \end{aligned}$$

zusammen und stellen diese der Gruppe

$$A = (1)$$

gegenüber.

Die Gruppe 14, bei der wir nur subcutan appliziert haben, erhält die Nomenklatur H, also

$$H = (14)$$

Zur Berechnung der Mittelwerte und Standardabweichungen stellten wir die Gruppe A gegenüber den Gruppen B, C, D, E, F und G sowie der Gruppe H, da sich kein signifikanter Unterschied zwischen subcutaner und intraperitonealer Applikationsform ergab.

Die in der nachfolgenden Tabelle angegebenen Standardabweichungen (S), ermittelt nach der Formel:

$$S = \sqrt{\frac{\sum (a_v - \bar{a})^2}{n - 1}}$$

wobei a_v Einzelergebnisse
und $\bar{a}$ Mittelwert

bedeutet, ist ein Schätzwert für die Abweichung des Ergebnisses vom wahren Mittelwert bei einmaliger Wiederholung des Experimentes.

Zur Vereinfachung wurde bei Vergleichen geprüft, ob sich die mit $\pm s$ abgegrenzten Bereiche überschneiden. Da bei den hier vorliegenden Zahlen von je 4 bis 5 Versuchen $s \sim 2 s_{\bar{x}}$ ist und die Prüfung auf Überschneidung bei einer bestimmten Bereichsabgrenzung etwa dem 1,4 fachen Wert der Prüfung mit dem Standardfehler der Differenz entspricht,

$$s_{\bar{x}_1} + s_{\bar{x}_2} \sim 1,4 \sqrt{s_{\bar{x}_1}^2 + s_{\bar{x}_2}^2} \quad (\text{bei nicht sehr unterschiedlichen Werten von } s_{\bar{x}_1} \text{ u. } s_{\bar{x}_2})$$

ist die Prüfung ungefähr der Anwendung des dreifachen Standardfehlers der Differenz adäquat.

Tabellarisch zusammengefaßt ergab sich folgendes Bild:

Effekt von α -Liponsäure auf die Mitosezahl,
aufgestellt bei 250 Haarbulbi

Tab. 1

Gruppe	α -Liponsäure	Mittelwerte	Standardabweichungen
A = (1)	(-)	3590	+ 751
B = (2 + 3)	(-)	1788	+ 801
C = (4 + 5)	(2,5 mg)	878	+ 351
D = (6 + 7)	(1,0 mg)	1262	+ 640
E = (8 + 9)	(0,5 mg)	1779	+ 599
F = (10 + 11)	(0,2 mg)	1534	+ 587
G = (12 + 13)	(0,1 mg)	1792	+ 926
H = (14)	(0,01 mg)	1424	+ 325

Effekt von α -Liponsäure auf die Mitosezahl,
aufgestellt bei je einem Haarbulbus

Tab. 2

Gruppe	α -Liponsäure	Mittelwerte	Standardabweichungen
A = (1)	(-)	14,3	+ 3,0
B = (2 + 3)	(-)	7,15	+ 3,2
C = (4 + 5)	(2,5 mg)	3,51	+ 1,4
D = (6 + 7)	(1,0 mg)	5,05	+ 2,56
E = (8 + 9)	(0,5 mg)	7,12	+ 2,5
F = (10+11)	(0,2 mg)	6,14	+ 2,45
G = (12+13)	(0,1 mg)	7,17	+ 3,7
H = (14)	(0,01 mg)	5,70	+ 1,3

An Hand der vorstehend ermittelten Werte verglichen wir:

a)	Gruppen	Mittelwerte
Gruppe	A = (1)	14,3
mit	B = (2+3)	7,15
	C = (4+5)	3,51
	D = (6+7)	5,05
	E = (8+9)	7,12
	F = (10+11)	6,14
	G = (12+13)	7,17
	H = (14)	5,70

Dabei wurde in allen 7 Fällen ein signifikanter Unterschied festgestellt.

b)	Gruppen	Mittelwerte
Gruppe	B = (2+3)	7,15
(Colchizin + physiologische Kochsalzlösung)		
mit	C = (4+5)	3,51
	D = (6+7)	5,05
	E = (8+9)	7,12
	F = (10+11)	6,14
	G = (12+13)	7,17
	H = (14)	5,70
(Colchizin, physiologische Kochsalzlösung + α -Liponsäure)		

Es ergab sich nun bei Gruppe C = (4+5), d.h. bei der höchsten Konzentration von α -Liponsäure eine signifikante Abweichung.

Aus diesen Ausführungen geht hervor, daß bei unseren Untersuchungen über die mitotische Aktivität mit α -Liponsäure in den einzelnen Haarbulbi unterschiedliche Mitosezahlen auffallen, bezogen auf den Mittelwert und ihre Streuung.

Ferner geht hervor, daß ein signifikanter Unterschied der Mitosezahlen bei alleiniger Applikation von Colchizin gegenüber der Applikation von Colchizin + NaCl + α -Liponsäure in variablen Konzentrationen, besteht.

Außerdem ist eine signifikante Abweichung der Mitosezahlen bei der höchsten Konzentration von α -Liponsäure (2,5 mg) gegenüber der Applikation von Colchizin + NaCl festzustellen, d.h., daß die α -Liponsäure keinen fördernden Effekt auf die mitotische Aktivität hat.

2. Die Wirkung von Glukose-6-Phosphat auf die mitotische Aktivität anagener Haarfollikel der Albinomaus in vivo

Effekt von Glukose-6-Phosphat auf die Mitosezahl, aufgestellt bei 250 Haarbulbi

Tab. 3

Gruppe	Glukose-6-Phosphat	Mittelwerte	Standardabweichungen
1	(0,06 g)	1734	$\pm$ 249
2	(0,03 g)	5789	$\pm$ 591
3	(0,003 g)	5245	$\pm$ 764
4	(0,0015 g)	1112	$\pm$ 1005
5	(-)	1185	$\pm$ 1140

Effekt von Glukose-6-Phosphat auf die Mitosezahl,
aufgestellt bei je einem Haarbulbus

Tab. 4

Gruppe	Glukose-6-Phosphat	Mittelwerte	Standardabweichungen
1	(0,06 g)	6,94	+ 1,0
2	(0,03 g)	23,2	+ 2,36
3	(0,003 g)	21,0	+ 3,06
4	(0,0015 g)	4,45	+ 4,02
5	(-)	4,74	+ 4,56

Wir verglichen die Gruppen 1-4 mit der Gruppe 5 (Kontrollgruppe, 0,1 mg Colchizin + 0,2 cc NaCl).

Es ergab sich nun ein signifikanter Unterschied der Gruppen 2 + 3 gegenüber Gruppe 5, hingegen kein signifikanter Unterschied von Gruppen 1 + 4 gegenüber der Kontrollgruppe 5.

Das bedeutet, daß die Zahl der Mitosen nach Injektion von Glukose-6-Phosphat in einer Dosis von 0,03 g und 0,003 g am höchsten ist, hingegen bei Abnahme der Konzentration bis auf 0,0015 g Glukose-6-Phosphat und bei Zunahme einer solchen auf 0,06 g Glukose-6-Phosphat absinkt.

3. Die Wirkung von Fruktose-6-Phosphat auf die mitotische Aktivität anagener Haarfollikel der Albinomaus in vivo

Effekt von Fruktose-6-Phosphat auf die Mitosezahl, aufgestellt bei 250 Haarbulbi

Tab. 5

Gruppe	Fruktose-6-Phosphat	Mittelwerte	Standardabweichungen
1	(0,03 g)	2601	+ 365
2	(0,003 g)	2141	+ 168
3	(0,0015 g)	1930	+ 687

Effekt von Fruktose-6-Phosphat auf die Mitosezahl, aufgestellt bei je einem Haarbulbus

Tab. 6

Gruppe	Fruktose-6-Phosphat	Mittelwerte	Standardabweichungen
1	(0,03 g)	10,4	+ 1,46
2	(0,003 g)	8,56	+ 0,67
3	(0,0015 g)	7,72	+ 2,75

Wir verglichen die Gruppen 1, 2 + 3 mit der Kontrollgruppe 5 aus der Versuchsserie II.

Dabei ermittelten wir einen signifikanten Unterschied von Gruppe 1 gegenüber Gruppe 5, hingegen keine signifikante Abweichung bei den Gruppen 2 + 3 gegenüber Gruppe 5.

Das bedeutet, daß eine Fruktose-6-Phosphat-Lösung in einer Dosis von 0,03 g die höchste mitotische Aktivität bewirkt. Unterhalb dieser Dosis wird die mitotische Aktivität herabgesetzt. Gegenüber der Kontrollgruppe 5 von Serie II ist die mitotische Aktivität bei dieser Dosis (0,03 g Fruktose-6-Phosphat) erhöht.

Die von uns erzielten Ergebnisse bei unseren Untersuchungen von α -Liponsäure, Glukose-6-Phosphat und Fruktose-6-Phosphat auf die mitotische Aktivität der Haarfollikel bei der Albinomaus möchten wir vergleichend der bisher bekannten Literatur gegenüberstellen.

Bullough u. Laurence (1958) stellten fest, daß bei verhungerten Mäusen die mitotische Aktivität nicht nachläßt, bis sich die Tiere nach 36 Stunden im Kollaps befinden. Dann genügt eine Hinzuführung von Glukose, um die mitotische Aktivität auf die normale Höhe zu bringen. Durch einen vollen Schock wie nach ATP-Injektion, ist die mitotische Aktivität der Matrixzellen fast vollkommen gehemmt. In der Haut, die man von einer vollgeschockten Maus gewonnen hat, kehrt die mitotische Aktivität fast sofort zur normalen Tätigkeit zurück, wenn man Glukose hinzugefügt (Bullough u. Laurence 1958).

Im Gegensatz zu der Epidermis zeigen die Matrixzellen eines normal wachsenden Haarfollikels keine Zeichen von Tagesrhythmik, also kein Nachlassen der mitotischen Aktivität nach Stunden angestrengter Arbeit (Bullough u. Laurence 1958).

Die Untersuchungen von Bullough u. Laurence (1952) bei einer Mausohrepidermis im vitro haben gezeigt, daß die mitotische Aktivität sich dann entwickeln kann, wenn ein Kohlenhydrat-Substrat wirksam oxydiert wird. Bullough u. Laurence (1958) stellten ferner fest, daß zur Entwicklung einer mitotischen Aktivität in der Haarmatrix eine adaequate Versorgung mit Sauerstoff und angepaßten Kohlenhydraten notwendig ist. Fehlt einer dieser beiden Faktoren, so ist die mitotische Aktivität stark gehemmt.

Bullough u. Laurence (1958) haben bei der Untersuchung der mitotischen Aktivität der Haarmatrix im Warburg-Apparat festgestellt, daß die Matrixzellen auch in Abwesenheit von Glukose eine mitotische Aktivität zeigen. Für diese, den sonstigen Feststellungen entgegenstehende Beobachtung wird angenommen, daß hierfür Kohlenhydratreserven der Haut verantwortlich seien. Neben diesen möglichen Reserven enthält ein vollaktiver Haarfollikel eine beträchtliche Menge an Glykogen, welches sich hauptsächlich in der äußeren Wurzelscheide, in der Gegend, die die Keratinisationszone umgibt, befindet. Bei Mangel an Glykose verschwindet das Glykogen innerhalb von 5 Stunden (Bullough u. Laurence 1958).

Ideale Kohlenhydrate für die Unterhaltung von mitotischer Aktivität sind Glukose, Fruktose und Pyruvat, wobei von diesen Substanzen die Glukose am be-

sten die mitotische Aktivität fördert (Bullough u. Laurence 1958). Das wird durch die Ergebnisse unserer Arbeit vollkommen bestätigt.

Bei verschiedener Glukosekonzentration haben Bullough u. Laurence (1958) folgende Mitoserate pro Follikel angegeben:

Glukose- konzentration	0, 01 Mol.	0, 03 Mol.	0, 06 Mol.
Mitosezahl pro Follikel	6, 19 $\pm$ 0, 22	6, 25 $\pm$ 0, 25	1, 98 $\pm$ 0, 30

Es ergibt sich daraus, daß sich eine 0, 03 Mol. -Glukose optimal fördernd auf die mitotische Aktivität auswirkt, während eine 0, 06 Mol. -Konzentration einen hemmenden Einfluß hat.

Auch bei unseren Versuchen erreichten wir mit einer Dosis von 0, 03 g Glukose-6-Phosphat die höchste Mitosezahl 23, 2 $\pm$ 2, 36 und 21, 0 $\pm$ 3, 06 pro Haarfollikel (siehe Tab. 4). Oberhalb dieser Konzentration, d.h. 0, 06 g Glukose-6-Phosphat (Mitosezahl pro Haarfollikel 6, 44 $\pm$ 1, 0) und unterhalb derselben, d.h. 0, 0015 g Glukose-6-Phosphat (Mitosezahl pro Haarfollikel 4, 45 $\pm$ 4, 02) nahm die mitotische Aktivität stark ab. Auch diese Ergebnisse decken sich mit denen anderer Untersucher.

Jede Substanz, von der man weiß, daß sie den Vorgang der Glykolyse, des Krebszyklus oder des Cytochromsystems hindert, hindert auch die mitotische Aktivität des Haarbulbus (Bullough u. Laurence 1958). Die Substanz 2-4 Dintrophanol, von der man sagt, daß sie den Vorgang der Energieübertragung hemmt, hat das gleiche Ergebnis.

Es ist daher augenscheinlich, daß alle diese Untersuchungen zu dem Ergebnis führen, daß die hohe mitotische Aktivität eines Haarbulbus nur durch hohe Grade an Energieerzeugung in den Zellen und durch aeroben Stoffwechsel aufrecht erhalten werden kann. Daher muß man erwarten, daß der mitotisch aktive Haarbulbus normalerweise große Mengen an Glukose und Sauerstoff aufnehmen kann (Bullough u. Laurence 1958).

Die Kohlenhydrate stellen eine gute Energiequelle für das Leben der Zellen dar. Die in ihr enthaltene Energie kann durch aerob oder anaerob verlaufende Abbauvorgänge freigesetzt werden. In den lebenden Zellen geht von dem oxydativen Abbau der Kohlenhydrate ein anaerober Abbau bis zur Brenztraubensäure voran (Lehnartz 1943).

Die in dieser Arbeit untersuchten Stoffwechselmetaboliten (Glukose-6-Phosphat, Fruktose-6-Phosphat) gehören zu den Zwischenstoffwechselprodukten, die bei dem anaeroben Abbau der Kohlenhydrate in den Zellen auftreten.

Die dritte Substanz, α -Liponsäure, ist ein Coenzym, welches an der oxydativen Dekarboxylierung der Brenztraubensäure beteiligt ist.

IV. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurde die Wirkung von Stoffwechselmetaboliten aus der Glykolysereihe (Glukose-6-Phosphat und Fruktose-6-Phosphat), sowie die Wirkung von α -Liponsäure, die als Coenzym A im Brenztraubensäurezyklus des Kohlenhydratstoffwechsels eine bedeutende Rolle spielt, auf die mitotische Aktivität der Haarmatrixzellen bei der Albinomäus untersucht.

Zu Beginn unserer Arbeit referierten wir über die Bedeutung der Haarmatrixzellen für das Haarwachstum, über den Haarwachstumszyklus bei der Albinomäus, sowie die mitotische Aktivität der Haarmatrixzellen während des Haarzyklus. Ferner äußerten wir uns über die Wirkungsweise der einzelnen Testsubstanzen auf die mitotische Aktivität im Haarbulbus der Albinomäus.

Hinweise über die Chemie, die Pharmakologie sowie über die Bedeutung der genannten Substanzen im Kohlenhydratstoffwechsel vervollständigen unsere Ausführungen.

Bei unseren eigenen Versuchen verwendeten wir 21 Tage alte männliche Albinomäuse, bei denen wir ein 3-4 cm² großes Areal auf dem Rücken epiliierten, so daß die Mitoserate pro Haarbulbus am 10. Tag des künstlich eingeleiteten II. Haarzyklus registriert werden konnte. Die Untersuchungen wurden in vivo durchgeführt. Als Mittel zur Synchronisation des Haarwachstumszyklus verwendeten wir Colchizin als mitosehemmendes Pharmakum. Die Zahl der Versuchstiere betrug 103.

Die Zahl der Follikel, bei denen die Mitoserate registriert wurde, umfaßte 25750.

Die Ergebnisse wurden statistisch überprüft und ausgewertet.

Wir kamen zu folgenden Feststellungen:

1. Für die Untersuchungen der mitotischen Aktivität stellten die Haarbulbi ein gutes Objekt dar.

2. Bei unseren Untersuchungen über die mitotische Aktivität in den einzelnen Haarbulbi fallen die unterschiedlichen Mitosezahlen, bezogen auf den Mittelwert, und ihre Streuungen auf.
3. Bei der Untersuchung der α -Liponsäure auf die mitotische Aktivität stellten wir fest,
 - a) daß kein signifikanter Unterschied bezüglich der Applikationsform (subcutan oder intraperitoneal) besteht,
 - b) daß die Applikationsform für die Versuchsergebnisse keine Rolle spielt,
 - c) daß ein signifikanter Unterschied der Mitosezahlen bei alleiniger Applikation von Colchizin gegenüber der Applikation von Colchizin, NaCl und α -Liponsäure in variablen Konzentrationen besteht,
 - d) daß eine signifikante negative Abweichung der Mitosezahlen besteht bei der höchsten Konzentration von α -Liponsäure (2,5 mg) gegenüber der Applikation von Colchizin und NaCl, d. h. daß die α -Liponsäure keinen fördernden Effekt auf die mitotische Aktivität hat.
4. Bei der Untersuchung von Glukose-6-Phosphat auf die mitotische Aktivität im Haarbulbus stellten wir fest,
 - a) daß die Zahl der Mitosen bei Anwesenheit von Glukose-6-Phosphat in einer Dosis von 0,03 g und 0,003 g Glukose-6-Phosphat am höchsten ist,
 - b) daß die Zahl der Mitosen bei Abnahme der Konzentration (0,0015 g Glukose-6-Phosphat) bzw. bei Zunahme einer solchen (0,06 g Glukose-6-Phosphat) absinkt.
5. Bei der Untersuchung von Fruktose-6-Phosphat auf die mitotische Aktivität stellten wir fest, daß eine 15 %ige Fruktose-6-Phosphat-Lösung, d. h. eine Dosis von 0,03 g Fruktose-6-Phosphat die höchste mitotische Aktivität bewirkt. Unterhalb dieser Dosis wird die mitotische Aktivität herabgesetzt.

V. GRAPHISCHE DARSTELLUNG

Die folgenden Säulendiagramme sind jeweils nach den Mittelwerten der Mitosezahlen in den gezählten Haarbulbi gezeichnet.

Sie sollen als Übersicht über die Veränderungen der Mitosezahlen in den einzelnen Versuchsreihen dienen.

Säulendiagramm Nr. 1

zur Tabelle Nr. 2 - Seite 29

Mitosezahl pro Haarfollikel (Mittelwert)

15

14

10

5

0

Colchi-	Colchi-	Colchi-	Colchi-	Colchi-	Colchi-	Colchi-	Colchi-
cin	cin	cin	cin	cin	cin	cin	cin
0,1 mg	0,1 mg	0,2 mg	0,1 mg	0,1 mg	0,1 mg	0,1 mg	0,1 mg
	+ NaCl	+ Li	+ Li	+ Li	+ Li	+ Li	+ Li
	0,2 ccm	ponsäure	ponsäure	ponsäure	ponsäure	ponsäure	ponsäure
		re	re	re	re	re	re
		2,5 mg	1,0 mg	0,5 mg	0,2 mg	0,1 mg	0,01 mg

Dosis der verwendeten Testsubstanzen

23,2

20

15

14

10

5

0

Säulendiagramm Nr. 2

zur Tabelle Nr. 4 - Seite 31

Mitosezahl pro Haarfollikel (Mittelwert)

Colchi-	Colchi-	Colchi-	Colchi-	Colchi-	Colchi-	Colchi-
cin	cin	cin	cin	cin	cin	cin
0,1 mg	0,1 mg	0,1 mg	0,1 mg	0,1 mg	0,1 mg	0,1 mg
+ NaCl	+ Gluko-	+ Gluko-	+ Gluko-	+ Gluko-	+ Gluko-	+ NaCl
0,2 g	0,2 g	0,2 g	0,2 g	0,2 g	0,2 g	0,2 g
Phos	Phos	Phos	Phos	Phos	Phos	Phos
chat	chat	chat	chat	chat	chat	chat
0,05 g	0,05 g	0,05 g	0,05 g	0,05 g	0,05 g	0,05 g

Dosis der verwendeten Testsubstanzen

Mitosezahl pro Haarfollikel (Mittelwert)

20

15

14

10

5

0

Skulendiagramm Nr. 3

zur Tabelle Nr. 6 - Seite 32

Colchi-	Colchi-	Colchi-	Colchi-	Colchi-	Colchi-
cin	cin	cin	cin	cin	cin
0,1 mg	0,1 mg	0,1 mg	0,1 mg	0,1 mg	0,1 mg
	+ NaCl	+ Fruktose	+ Fruktose	+ Fruktose	+ NaCl
	0,2 ccm	0,2 ccm	0,2 ccm	0,2 ccm	0,2 ccm
		Phosphat	Phosphat	Phosphat	
		0,05 g	0,05 g	0,05 g	

Dosis der verwendeten Testsubstanzen

VI. LITERATURVERZEICHNIS

1. ALLEN, E.: Reactions of the genital tissue to estrogens. Cold. Spr. Harb. Sym. Biol. 5, 104-110 (1957).
2. AUBER, L.: The anatomy of follicles producing woolfibres with special reference to keratinisation. Trans. Roy. Soc. (Edinb.) 62, 191-254 (1952).
3. BORUM, K.: Hair pattern and succession in the albinomouse. Acta Path. et Microbiol. Scand. 34, 521-541 (1934).
4. BRAUN-FALCO, O.: Die Bedeutung von Dysfermentien im Haarfollikel als Ursache temporärer Alopecien. Parfümerie u. Kosmetik 41, 53-54 (1960).
5. BRAUN-FALCO, O.: Über die mitotische Aktivität in der Haarmatrix bei der Albinomaus während eines künstlich induzierten Haarzyklus. Arch. f. Dermatologie u. Syphilis 215, 63 (1962).
6. BRAUN-FALCO, O.
u. THEISSEN, H.: Über die Wirkung von Enzyminhibitoren auf das Haarwachstum bei Ratten. Arch. klin. exper. Dermat. 208, 317-324 (1959).
7. BRUES, A. M.: The effect of colchicine on regenerating liver. J. Physiol. 86, 63-64 (1936).
8. BULLOUGH, W. S.: The action of colchicine in arresting epidermal mitosis. J. Exper. biol. 26, 287-291 (1949d).
9. BULLOUGH, W. S.: The energy relation of mitotic activity. Biol. Revs. (Cambridge) Phil. Soc. 27, 133-168 (1952).
10. BOULLOUGH, W. S.
u. LAURENCE, E.: The mitotic activity of follicle, in: The Biology of Hair Growth. Chapt. 8, 171-187, Acad. Press. New York, hrsg. v. W. Montagna u. R. A. Ellis (1958).
11. BUTCHER, E. O.: Development of the pilary system and the replacement of hair in mammals. Ann. New York Acad. Sci. 53, 508-516 (1951).
12. CHASE, H. B.: Growth of the hair. Physiol. Rev. 34, I, 113-126 (1954).

13. CHASE, H. B.: The physiology and histochemistry of hair growth. J. Soc. Cosmetic 6, 9-14 (1955).
14. CHASE, H. B.,
RAUCH, H.
u. SMITH, V.: Critical stages of hair development and pigmentation in the mouse. Physiol. Zool. 24, 1-8 (1951).
15. CHASE, H. B.,
MONTAGNA, W.
a. MALONE, J. D.: Changes in the skin in relation to the hair growth cycle. Anat. Record 116, 75-81 (1953).
16. COLLINS, H. H.: Studies of normal moult and of artificially induced regeneration of pelages in peromyscus. J. exper. Zool. 27, 73-93 (1918).
17. COLLINS, H. H.: Studies of normal moult and of artificially induced regeneration of pelages in perimyscus. J. exper. Zool. 27, 73-93 (1919).
18. DANNEEL, R.: Die Entwicklung der Haare bei der Ratte. Zs. Morph. u. Ökol. Tiere 20, 733-754 (1931).
19. DAVID, L. T.: Studies on the expression of genetic hairlessness in the house mouse (*Mus musculus*), I. Skin folds; II. Precocious hair regeneration; III. Reactions to benzyl mercaptan; IV. Skin grafts and parabiosis. J. exper. Zool. 68, 501-518 (1934).
20. DRY, F. W.: The coat of the mouse (*Mus musculus*). J. Genet. 16, 287-340 (1926).
21. DURWARD, A.
a. RUDALL, K. M.: Studies on hair growth in the rat. J. Anat. (London) 83, 325-335 (1949).
22. DUSTIN, A. P.: Contribution à l'étude de l'action des poisons caryo-clasiques sur les tumeurs animaux, action de la colchicine sur le sarcome greffé, type croker, de la souris. Bull. Acad. Roy. de Méd. de Belgique 14, 187-502 (1934).

23. DUSTIN, A. P.: A propos des applications des poisons caryoclasiques à l'étude des problèmes des pathologie expérimentale, de cancerologie et de l'endocrinologie. Arch. exper. Zellforschg. 22, 395-407 (1919).
24. FRASER, D. A.: The development of the skin of the back of the albino rat until the eruption of the first hairs. Anat. Record 38, 203-224 (1928).
25. FRASER, A. S.: Growth of the mouse coat. J. Exper. Zool. 117, 15-29 (1951).
26. GIBBS, H. F.: A study of the postnatal development of the skin and hair of the mouse. Anat. Record 80, 61-81 (1941).
27. GIOVANNINI, S.: De la régénération des pois après l'épilation. Arch. mikroskop. Anat. (Berlin) 36, 528-564 (1890).
28. HADDOW, A.
a. RUDALL, K. M.: Artificial coat colouration and the growth of hair. Endeavour 4, 141-147 (1945).
29. HADDOW, A.,
ELSON, L. A.,
ROE, E. M. F.,
RUDALL, K. M.
a. TIMMIS, G. M.: Artificial production of coat colour. Nature (London) 155, 379-381 (1945).
30. HARDY, M. H.: The histochemistry of hair follicle in the mouse. Am. J. of Anat. 90, 285-338 (1952).
31. KIRSCH, I.: Über den Einfluß peripherer Gefäßerweiterung auf die Mitoserate des aktiv wachsenden Haarfollikels der Albinomaus. Inaugural-Dissertation. Mainz 1961.
32. KÜNTZEL, A.,
VAGO, C.
u. SEITZ, A.: Über den Bau der Haarwurzel bei Papillenhaaren und Kolbenhaaren. Collegium 11, 85-96 (1937).
33. LEBLOND, C. P.
a. STEVENS, D. E.: The constant renewal of the intestinal epithelium in the albino rat. Anat. Record 100, 357-377 (1948).
34. LEHNARTZ, E.: Chemische Physiologie, 6. Aufl. S. 335-352 (1943).

35. LITS, F. J.: Contribution à l'étude des réactions cellulaires provoquées par la colchicine. *Compt. Rend. Soc. des Biol.* 115, 1421-1423 (1934).
36. LOEWENTHAL, L. J. A. Effects of caloric restriction on skin and hair growth a. MONTAGNA, W.: in mice. *J. Invest. Dermat.* 24, 429-433 (1955).
37. MEHRANFAR, S.: Über das Verhalten der mitotischen Aktivität der Haarmatrixzellen unter dem Einfluß von Stoffwechselmetaboliten in vitro bei Albinomäusen. Inaugural-Dissertation. Mainz 1961.
38. MOHN, M. P.: The effect of different hormonal states of the growth of hair in rats, in: *The Biology of hair growth*. Chapt. 15, 335-398, edit. by W. Montagna a. R. A. Ellis, Academic Press New York (1958).
39. MONTAGNA, W.: The structure and function of skin. Academic Press New York (1956).
40. MONTAGNA, W. u. van SCOTT, E. J.: The anatomy of the hair follicle, in: *The biology of hair growth*, Chapt. 3, 39-64, by W. Montagna a. R. A. Ellis, Academic Press New York (1958).
41. OHNACKER, Hans: Über das Verhalten der mitotischen Aktivität in der Haarmatrix während eines Haarzyklus bei Albinomäusen. Inaugural-Dissertation. Mainz 1960.
42. OHNACKER, Helmut: Über die mitotische Aktivität in Epidermis und äußere Wurzelscheide während eines Haarzyklus bei Albinomäusen. Inaugural-Dissertation. Mainz 1960.
43. PINKUS, H.: Embryology of hair, in: *The biology hair growth*. P. 1-32, hrsg. von W. Montagna a. R. A. Ellis, Academic Press New York (1958).
44. RYDER, M. L.: Nutritional factors influencing hair and wool growth, in: *The biology of hair growth*. Chapt. 14, 3-5-329, edit. by W. Montagna a. R. A. Ellis, Academic Press New York (1958).

45. SEGALL, A.: Über die Entwicklung und den Wechsel der Haare beim Meerschweinchen. (*Cavia cobaya* Schreb). Arch. mikroskop. Anat. Berlin 91, 218-291 (1918).
46. SENTEN, P.: Action de la colchicine sur la division cellulaire au cours du développement du triton. Montpellier Méd. 21-22, 491-492 (1942).
47. SENTEN, P.: Action expérimentale de la colchicine sur la mitose chez quelques batraciens anoures à l'état adulte et au cours du développement. Montpellier Méd. 21-22, 494-495 (1942).
48. STRAUSS, R. E.
a. KLIGMAN, A. M.: The effects of mitotic poisons on hair growth in mice. J. Invest. Dermat. 22, 515-519 (1954).
49. WOLBACH, S. B.: The hair cycle of the mouse and its importance in the study of sequences of experimental carcinogenesis. Ann. New York Acad. Sci. 53, 517-536 (1951).

Literaturverzeichnis

zu dem Abschnitt α -Liponsäure, entnommen von dem Referat: Chemie und Biochemie der α -Liponsäure von Dr. Hans Grisebach, Organisch-Chemisches Institut der Technischen Universität, Berlin-Charlottenburg 2, Straße des 17. Juni Nr. 115. (Angew. Chem./68. Jahrg. 1956/Nr. 17/18).

1. BONI, P., Clin. terap. 9, 129 (1955).
REDUZZI, F.,
BILEE, G. e
GALLORO, V.:
2. BUSINCO, L., e L. Setzu Min. med. 49, 1353 (1958).
RICCI, P. e
FICOLA, G.:
3. DE BUSK, B. G. a. Arch. Biochem. a. Biophysics 55, 587 (1955).
WILLIAMS, R. J.:
4. GUNSALUS, I. C.: "The mechanism of enzyme action" 1954, 545
edit. W. D. My Elroy a. B. Class, Johns Hopkins
Press, Baltimore.
5. KIDDER, G. W. Biol. Bull. 87, 121 (1944).
a. DEWEY, V. C.:
6. KIDDER, G. Arch. of Biochem. a. Biophysics 8, 293 (1945),
a. DEWEY, V. C.: zit. n. H. Grisebach: Chemie und Biochemie der
 α -Liponsäure, Angew. Chem. 68, 554 (1956).
7. KORKES, S., J. Biol. Chem. 195, 541 (1952).
DEL CAMPILLO, A.
a. OCHOA, S.:
8. KORKES, S., J. Biol. Chem. 193, 721 (1951).
DEL CAMPILLO, A.,
GUNSALUS, I. C.
a. OCHOA, S.:
9. O'KANE, D. J. J. Bacteriol. 54, 20 (1947); 56, 499 (1948).
a. GUNSALUS, I. C.:

10. PATTERSON, E. L., Ebenda 76, 1823 (1954).
PIERCE, J. V.,
STOKSTAD, E. L. R.,
HOFFMANN, C. E.,
BROCKMANN, J. A.,
DAV, F. D.,
MACCHI, M. E.
a. JUKES, T. H.:
11. REED, L. J., Science (Washington) 114, 93 (1951).
DE BUSK, B. G.,
GUNSALUS, I. C.
a. HORNBERGER, C. S.:
12. REED, L. J., J. Americ. Chem. Soc. 73, 5920 (1951).
DE BUSK, B. G.,
GUNSALUS, E. C.
a. SCHNAKENBERG, G. H. F.:
13. REED, L. J., Ebenda 75, 1267 (1953).
GUNSALUS, I. C.,
SCHNAKENBERG, G. H. F.,
SOPER, Q. F.,
BOATZ, H. E.,
KERN, S. F.
a. PARKER, T. V.:
14. STOKSTAD, E. L. R., Arch. of Biochem. a. Biophysics 20, 75 (1949).
HOFFMANN, C. E.,
REGAN, M. A.,
FORDHAM, D.
u. JUKES, T. H.:



Für die freundliche Übernahme des Korreferates fühle ich mich verpflichtet, Herrn Professor Dr. med. G. W. Korting, Direktor der Klinik für Haut- und Geschlechtskrankheiten der Johannes Gutenberg-Universität, Mainz, verbindlichst zu danken.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. med. O. Braun-Falco, Direktor der Dermatologischen Universitätsklinik und Poliklinik, Marburg, für die Anregung, wissenschaftliche Betreuung und Beratung dieser Arbeit und für die Übernahme des Referates.



LEBENS LAUF

Am 27.1.1931 wurde ich als Sohn des Druckereibesitzers Abdolhossein Tehranian und dessen Ehefrau Iran, geb. Farmanfarmai, in Mesched/Iran geboren.

Meine Schulbildung bis zur Oberschule habe ich in meinem Geburtsort Mesched absolviert. Die weitere Schulausbildung bis zum Abitur beendete ich in Teheran.

Nach dem Abitur wurde ich für 2 Jahre zum Militärpflichtdienst einberufen.

Seit Mai 1955 bis Frühjahr 1962 habe ich an der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz Medizin studiert. Am 25.10.1957 bestand ich das Physikum mit der Gesamtnote "gut". Am 2.5.1962 habe ich das Medizinische Staatsexamen bestanden.

Seit 15.5.1962 bis 15.5.1964 war ich Medizinalassistent an verschiedenen deutschen Krankenhäusern.

Seit 16.5.1964 bin ich als Assistenzarzt auf der Geburtshilflich-gynäkologischen Abteilung des Kreiskrankenhauses Alzey tätig.

